二种寄生蜂寄生抑制小菜蛾精巢生长和精子束形成的比较研究

何 璠，白素芬*，李 欣，蔡东章
（河南农业大学植物保护学院，郑州 450002）

摘要：我们曾发现菜蛾盘绒茧蜂 *Cotesia vestalis* 和半闭弯尾姬蜂 *Diadegma semiclausum* 寄生严重阻碍小菜蛾 *Plutella xylostella* 幼虫的精子发生。本研究着重比较2种蜂寄生对小菜蛾精巢生长和精子束形成的影响，以探明寄生因子对昆虫生殖调控的作用途径。采取过寄生和假寄生方法，对2种蜂各自寄生后的小菜蛾精巢生长体积，精子发生和形成过程中生精细胞、精子束的显微形态变化进行了比较。结果表明：茧蜂和姬蜂寄生均明显降低小菜蛾精子束的数量，严重阻碍了寄主幼虫的精子发生和精子形成。姬蜂寄生造成小菜蛾精巢畸形，而茧蜂则造成小菜蛾精子束畸形，且茧蜂对小菜蛾精巢生长的抑制程度明显强于姬蜂。过寄生造成寄主寄生性去势程度加剧，茧蜂和姬蜂过寄生后的小菜蛾精巢体积分别为0.005 mm^3 和0.008 mm^3，仅为各自只寄生1次后精巢体积的33.1%和36.3%。假寄生后，发现只有寄生蜂母代物质存在的前提下，对小菜蛾精巢生长的抑制程度基本模拟了正常寄生时的状态，说明多分 DNA 病毒(polydnavirus, PDV)和毒液发挥了主要作用。由此推断分属姬蜂属 PDV 和茧蜂属 PDV 的2类 PDV 功能基因对小菜蛾精巢生长发育的调控机制可能存在较大差异。

关键词：菜蛾盘绒茧蜂；半闭弯尾姬蜂；小菜蛾；精巢；精子束；寄生；假寄生；多分 DNA 病毒
中图分类号：Q966　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2009)11-1183-08

Comparative study of the inhibition of testicular growth and the formation of sperm bundles in host *Plutella xylostella* larvae by parasitization of two endoparasitoids

HE Fan, BAI Su-Fen*, LI Xin, CAI Dong-Zhang (College of Plant Protection, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: We had found that the parasitization by *Cotesia vestalis* and *Diadegma semiclausum* inhibited their host larval spermatogenesis seriously. This study intends to compare the testicular growth and the formation of sperm bundles in *Plutella xylostella* parasitized by the above two endoparasitoids, so as to make clear of the regulation capabilities of parasite factors on host reproductive system. By using the methods of superparasitism and pseudoparastism, the changes in testicular volume and morphology of spermatogenic cells and sperm bundles during the host larval spermatogenesis and spermiogenesis parasitized separately by the two endoparasitoids were compared. The results showed that parasitization by the two endoparasitoids both resulted in a reduction in the number of sperm bundles, and the spermatogenesis and spermiogenesis were retarded too. The abnormal testis structure or deformed sperm bundles were observed in *P. xylostella* parasitized by the two wasps. The degree of testis degeneration was more severe in *P. xylostella* parasitized by *C. vestalis* than that by *D. semiclausum*. Superparasitization induced more pronounced parasitic castration when compared with a single parasitism. After superparasitization separately by *C. vestalis* and *D. semiclausum*, the host testicular volume was 0.005 mm^3 and 0.008 mm^3, only 33.1% and 33.6% of their singly parasitized host testicular volume, respectively. Pseudoparasitization also resulted in testis degeneration, and the degree of degeneration was almost as severe as in the naturally parasitized hosts, suggesting that polydnavirus and venom are involved heavily in host castration. It is so inferred that the mechanisms adopted by the bracovirus and ichnovirus in host castration may be different.

Key words: *Cotesia vestalis*; *Diadegma semiclausum*; *Plutella xylostella*; testis; sperm bundle; parasitization; pseudoparasitization; polydnavirus

基金项目：国家自然科学基金面上项目(30471168)
作者简介：何璠，女，1982年生，河南荥阳人，硕士研究生，研究方向为昆虫生理生化和害虫生物防治，E-mail：hefan601@163.com
*通讯作者 Author for correspondence, E-mail：sfbai68@yahoo.com.cn
收稿日期 Received：2009-07-15；接受日期 Accepted：2009-9-24

菜蛾盘绒茧蜂 *Cotesia vestalis* (Haliday)和半闭弯尾姬蜂 *Diadegma semiclausum* Hellen 是世界性蔬菜害虫小菜蛾 *Plutella xylostella* (L.)幼虫的 2 种主要内寄生蜂。因其分布范围广、控害能力强，而成为世界上许多国家争相引进的天敌种类。研究发现这 2 种蜂有较强的寄生能力，可能与它们携带的寄生因子有关，如：菜蛾盘绒茧蜂寄生小菜蛾，在产卵的同时将多分 DNA 病毒(polydnavirus, PDV)、毒液等寄生因子也一同注入寄主体内，蜂卵孵化时还向寄主体腔中释放畸形细胞(白素芬等，2002，2003)。与茧蜂相比，姬蜂不产生畸形细胞，但在产卵时，也同样注入 PDV 和毒液等母代物质于寄主体腔中。值得关注的是，姬蜂 PDV 和茧蜂 PDV 分别隶属于姬蜂病毒属 *Ichnovirus* 和茧蜂病毒属 *Bracovirus*，二者之间除了形态差异较大外，进化上也无相关性(白素芬等，2003，2004)。目前，关于 2 类 PDV 的起源、进化、基因组结构和基因功能的比较研究已取得一些进展(Kroemer and Webb, 2004)。然而，关于两类 PDV 基因功能的研究主要集中在对寄主昆虫血细胞的免疫抑制和内分泌系统的调控方面(Beckage and Gelman, 2004; Nalini and Kim, 2009)，只有极少的报道涉及对寄主生殖器官发育的影响(Brown and Kainoh, 1992; Jones, 1996; Tagashira and Tanaka,1998)。

Tagashira 和 Tanaka (1998)报道了寄生蜂 PDV 是造成寄主昆虫寄生性去势即抑制寄主昆虫生殖器官发育的主要因子。对于雄性昆虫，精巢作为相对独立的器官，易受到寄生的影响，适于开展寄生因子对寄主组织、器官作用机制的研究。我们前期的研究结果已表明寄生蜂寄生严重阻碍了小菜蛾精巢的生长，使其体积变小，蛋白质含量降低，并推断 PDV 和毒液在其中发挥主要的功能作用(蔡东章等，2006; Bai *et al*., 2009)。但对 2 种寄生蜂寄生抑制寄主精巢生长发育的程度还缺乏进一步比较。因此，本文选取这 2 种拥有不同 PDV 类型的寄生蜂与其共同的寄主小菜蛾为体系，综合运用过寄生、假寄生方法，分别与正常寄生后小菜蛾的精巢生长发育进行比较，重点从细胞水平系统比较 2 种蜂寄生对小菜蛾幼虫生精细胞和精子束的影响，寻找它们之间的差异，并深入分析、比较拥有不同寄生因子的寄生蜂对寄主昆虫生殖的调控能力，特别是获取多分 DNA 病毒对昆虫生殖调控的有关信息。同时，研究 PDV 引起的小菜蛾精巢发育受阻，还可为害虫不育提供新的思路，为小菜蛾的生物防治提供新的策略和途径。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

小菜蛾、菜蛾盘绒茧蜂和半闭弯尾姬蜂均从郑州郊区蔬菜田采集。小菜蛾在室内 25 ± 1℃，60% ~ 80% RH，光照周期 14L:10D，光照强度 1 000 ~ 1 500 lux 的人工气候箱内用甘蓝饲养。2 种寄生蜂分别以适龄小菜蛾幼虫为寄主续代保种，羽化后的成蜂用 10% 的蜂蜜水在保蜂盒内饲养。

1.2 被寄生寄主的获得

1.2.1 假寄生寄主的获得：用 100Gy 的 ^{60}Co 照射 2 种寄生蜂雌蜂，导致其产入寄主体内的蜂卵不能孵化，以造成假寄生。分别挑选 120 头大小发育一致的 2 龄末小菜蛾雄性幼虫(透过小菜蛾幼虫第 5 腹节背板可以识别精巢的有无，由此区分雄虫和雌虫)，将 1 头处理过的茧蜂或姬蜂雌蜂收集在指形管中，接入 2 龄末小菜蛾幼虫 1 头，一次寄生行为发生后，再接入下 1 头小菜蛾，经不同寄生蜂寄生的试虫分别接入相应的小养虫笼内，每笼接虫 40 头，共设 3 笼。同时设未被寄生的小菜蛾雄性幼虫作对照，共计 120 头，方法同假寄生寄主。

1.2.2 正常寄生寄主的获得：分别挑选 120 头大小发育一致的 2 龄末小菜蛾雄性幼虫，供羽化后 2 d的茧蜂或姬蜂寄生，只寄生 1 次，若过寄生发生，则弃去该虫，其余方法同上。

1.2.3 过寄生寄主的获得：分别挑选 40 头大小发育一致的 2 龄末小菜蛾雄性幼虫，使茧蜂或姬蜂寄生同 1 头小菜蛾幼虫的次数达到 3 次。同时，分别获得 2 种蜂只寄生 1 次的小菜蛾雄性幼虫 40 头。其余方法同上。

1.3 被寄生小菜蛾精巢形态观察及生长体积的测量

分别于假寄生或正常寄生后 1，2，3，4，5，6，7 d，或过寄生后 5 d，挑选被寄生小菜蛾幼虫 5 头，解剖出精巢(每头只选 1 个精巢)，在 Leica 相差显微镜下，用相机(Canon Powershot A650 IS)拍照观察，用 DT2000 图像分析软件 V2.0 测其长(L)、宽(W)、厚(T)，分别取平均值，根据公式 $V = 1/4\pi$ (LWT)(L，W 和 T 分别代表精巢的长度、宽度和厚度)计算出精巢体积(Tagashira and Tanaka, 1998)。

1.4 生精细胞和精子束形态观察

对正常发育的分别处于 2 龄末、3 龄末、4 龄初、

4 龄中、4 龄末、预蛹、蛹和成虫的小菜蛾和经正常寄生或过寄生后 5 d 处于该处理发育平均水平的小菜蛾幼虫各选 5 ~ 10 头。在鳞翅目生理盐水中对所有供试小菜蛾进行解剖，取出成对的完整精巢，并用解剖针将其中 1 个精巢鞘撕碎，使精巢内生精细胞和精子束完全释放并较均匀地散落在生理盐水中。Leica 相差显微镜下，用相机（Canon Powershot A650 IS）拍照观察，并对其中的精子束数量进行统计。

1.5　数据统计分析

对所得数据采用 SPSS 软件进行配对样本 t 检验和单因素 ANOVA 差异显著性分析。

2　结果与分析

2.1　正常小菜蛾精子发生和形成过程

大多数鳞翅目昆虫的精子发生过程可划分为：精原细胞囊期、初级精母细胞囊期、次级精母细胞囊期和精细胞囊期（卢中建，1993）。精细胞经过复杂的形态结构变化，由圆形逐渐转变为具有鞭毛的精子，这个过程称为精子形成。小菜蛾的精子发生和形成过程与之完全吻合。

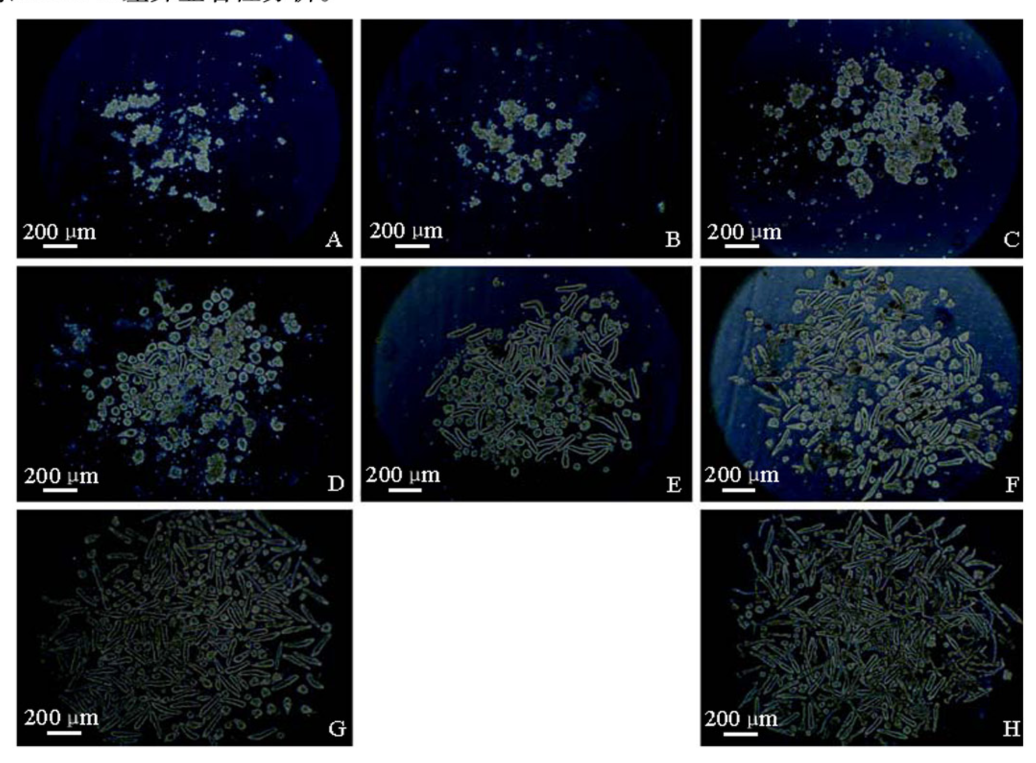


图 1　正常小菜蛾精子束形成过程

Fig. 1 The formation of sperm bundles of non-parasitized *Plutella xylostella*

A：2 龄末小菜蛾幼虫生精细胞 Spermatogenic cells of the late 2nd instar *P. xylostella* larva；B：3 龄末小菜蛾幼虫生精细胞 Spermatogenic cells of the late 3rd instar *P. xylostella* larva；C：4 龄初小菜蛾幼虫生精细胞 Spermatogenic cells of the early 4th instar *P. xylostella* larva；D：4 龄中小菜蛾幼虫生精细胞和精子束 Spermatogenic cells and sperm bundles of the middle 4th instar *P. xylostella* larva；E：4 龄末小菜蛾幼虫生精细胞和精子束 Spermatogenic cells and sperm bundles of the late 4th instar *P. xylostella* larva；F：小菜蛾预蛹生精细胞和精子束 Spermatogenic cells and sperm bundles of the *P. xylostella* prepupa；G：小菜蛾蛹生精细胞和精子束 Spermatogenic cells and sperm bundles of the *P. xylostella* pupa；H：小菜蛾成虫生精细胞和精子束 Spermatogenic cells and sperm bundles of the *P. xylostella* adult. 以上各图均为单个精巢所含的全部生精囊、生精细胞和精子束。All spermcysts, spermatogenic cells and sperm bundles were released from a single dissected testis.

在 3 龄以前，小菜蛾幼虫精巢中有大量的精原细胞和精母细胞（图 1：A，B），为精母细胞积累期。4 龄初出现大量的精母细胞（图 1：C），4 龄中期开始出现精子束（图 1：D），4 龄末精子束的数量开始增加，多为无核精子束（图 1：E）。预蛹期，成对的精巢开始愈合，精细胞囊和精子束的数量明显增多（图 1：F）。小菜蛾发育到蛹期，精细胞囊伸长形成大量的精子束，此期，精子束是主要的类型（图 1：G）。羽化为成虫后，精巢内形成大量真核精子束（图 1：H）。

2.2　茧蜂和姬蜂正常寄生对小菜蛾精子束的影响

对照 2 龄末小菜蛾幼虫发育 5 d 后进入 4 龄末，精巢内已形成较多数量的精子束及处于各发育时期的完整的生精囊（图 2：C），精子束的平均数

量为 62 个。茧蜂和姬蜂对小菜蛾的寄生均能较明显地抑制小菜蛾精子的发生和形成，表现为精子束数量明显比同期正常发育小菜蛾的少。

茧蜂寄生 5 d 后，小菜蛾精巢内部只出现极少的精子束，平均数量 5 个，完整的各级生精囊数量也很少，绝大多数的精原细胞未出现在精原细胞囊中，而以游离态出现(图 2：A)，这说明茧蜂寄生破坏了寄主生精囊的结构。姬蜂寄生与茧蜂寄生相比，小菜蛾精巢中精子束的数量，明显多于后者，数量约为茧蜂的 2 倍，其他类型的生精细胞数量也多于后者，而且生精囊完整性较好(图 2：B)。

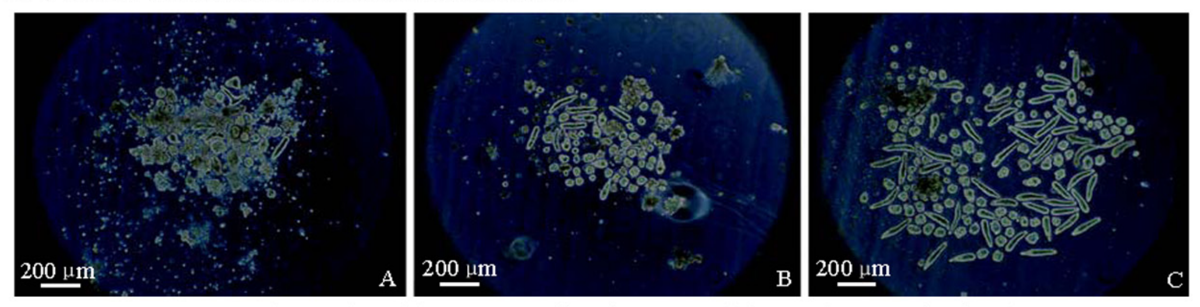


图 2 茧蜂和姬蜂分别寄生 2 龄末小菜蛾幼虫 5 d 后精巢内生精细胞和精子束形态

Fig. 2 The spermatogenic cells and sperm bundles in the late 2nd instar *Plutella xylostella* larva parasitized respectively by *Cotesia vestalis* and *Diadegma semiclausum* for 5 d

A：茧蜂寄生后，小菜蛾生精细胞和精子束形态 Spermatogenic cells and sperm bundles in parasitized *P. xylostella* larva by *C. vestalis*；B：姬蜂寄生后，小菜蛾生精细胞和精子束形态 Spermatogenic cells and sperm bundles in parasitized *P. xylostella* larva by *D. semiclausum*；C：正常 2 龄末小菜蛾幼虫发育 5 d 后的生精细胞和精子束形态 Spermatogenic cells and sperm bundles in non-parasitized *P. xylostella* larva developed for 5 d.

值得注意得是，茧蜂寄生引起小菜蛾幼虫精巢内精子束的出芽、分叉等畸形现象的发生(图 3：A ~F)。而姬蜂寄生则不出现以上症状，这说明茧蜂寄生因子可能诱导小菜蛾精子发生和形成过程中各级生精细胞发生了异常。

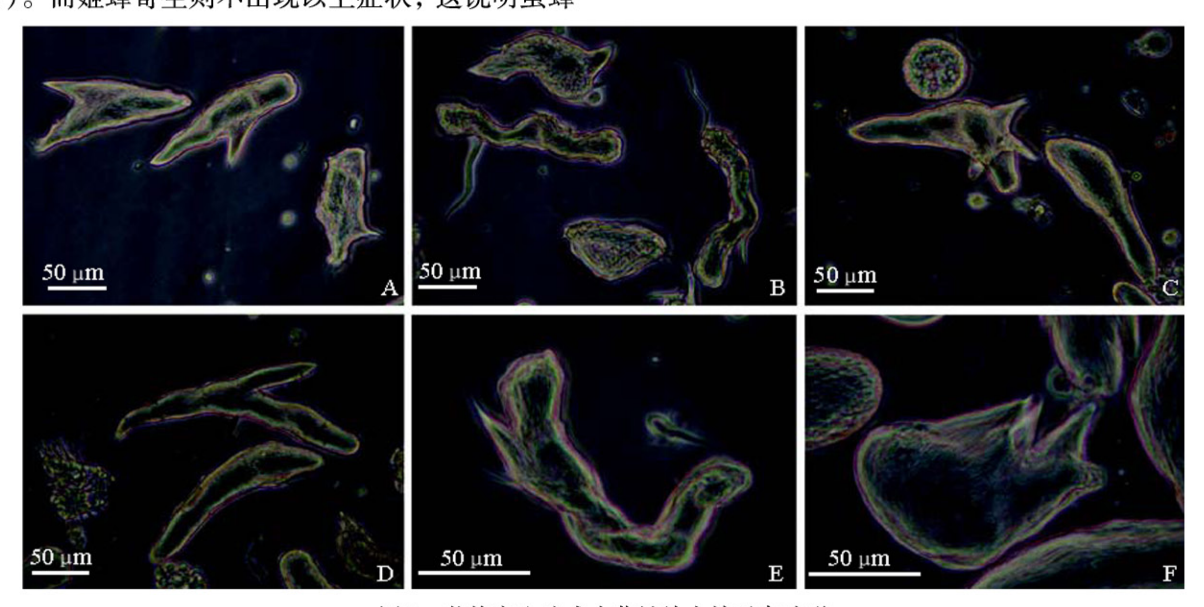


图 3 茧蜂寄生造成小菜蛾幼虫精子束畸形

Fig. 3 Deformed sperm bundles in *Plutella xylostella* larva parasitized by *Cotesia vestalis*

A - F：茧蜂寄生后小菜蛾精巢中不同畸形的精子束 Different forms of deformed sperm bundles in *P. xylostella* larva parasitized by *C. vestalis*.

2.3 过寄生对小菜蛾寄生性去势程度的影响

2.3.1 过寄生对小菜蛾精巢生长的抑制作用：菜蛾盘绒茧蜂和半闭弯尾姬蜂分别隶属于膜翅目的茧蜂科和姬蜂科。二者分别携带不同的寄生因子，茧蜂产卵寄生小菜蛾的同时，注入了 PDV、毒液等寄生因子，蜂卵孵化时又产生了畸形细胞(白素芬等，2002)及随后的蜂幼虫分泌物；姬蜂和茧蜂相比，缺乏畸形细胞。

过寄生后，对同一头寄主连续寄生 3 次，与只被寄生 1 次的寄主相比，就相当于携带了 3 倍生理剂

量的母代物质于寄主体内。经对比发现过寄生对小菜蛾精巢生长的抑制程度更为明显。茧蜂寄生 3 次后，小菜蛾精巢体积 0.005 mm^3，仅为只寄生 1 次的 33.1%，差异达显著水平（$P<0.05$）；姬蜂寄生 3 次后的寄主精巢体积 0.008 mm^3，是只寄生 1 次的 36.3%，差异也达到显著水平（$P<0.05$）。茧蜂寄生 3 次或 1 次分别与姬蜂寄生 3 次或 1 次相比，前者造成小菜蛾精巢体积均小于后者。且均极显著小于正常发育的小菜蛾精巢体积（$P<0.01$）（图4）。

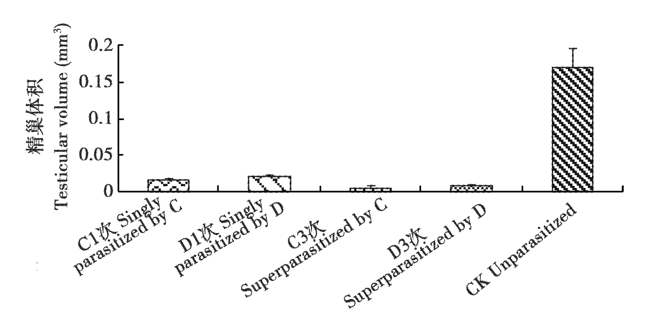


图4　过寄生 5 d 后小菜蛾精巢体积的变化

Fig. 4 Changes in testicular volume in *Plutella xylostella* 5 d post superparasitization

C：茧蜂 *Cotesia vestalis*；D：姬蜂 *Diadegma semiclausum*.

2.3.2　过寄生对小菜蛾精巢发育和精子束形成的抑制作用：对比精巢外部形态，未被寄生 4 龄末小菜蛾幼虫的精巢呈黄色，4 个精巢小管都很饱满（图 5：G）。茧蜂寄生明显抑制了小菜蛾精巢的发育，茧蜂寄生 1 次后，小菜蛾幼虫精巢体积增长缓慢，且精巢鞘上的黄色物质积累很少，呈浅黄色半透明；茧蜂寄生 3 次后，精巢变得更透明（图 5：A，B）。同样，姬蜂寄生也抑制了小菜蛾精巢的生长发育，姬蜂寄生 1 次后，小菜蛾精巢体积明显小于对照，且造成精巢外部形态畸形；姬蜂寄生 3 次后，与只寄生 1 次的相比，精巢畸形程度更加严重（图 5：E，F）。

观察精巢内部生精细胞和精子束的形态后发现，未被寄生小菜蛾幼虫发育到 4 龄末时，精巢内出现大量伸长的精子束（图 5：J）；茧蜂寄生 1 次出现极少伸长的精子束，且精子束发生畸形，而寄生 3 次后，小菜蛾生精细胞发育停留在精母细胞时期，极少出现伸长的精子束（图 5：C，D）；姬蜂寄生 1 次也出现伸长的精子束，但数量明显比对照少，姬蜂寄生 3 次后，小菜蛾精巢中伸长的精子束更少或完全没有（图 5：H，I）。

2.4　假寄生对小菜蛾精巢生长的影响

从图 6 中可以看出，正常发育的小菜蛾幼虫精巢的体积在 4 龄中后期迅速增大，呈指数增长。与之相比，茧蜂的寄生几乎完全抑制了小菜蛾精巢的发育，在随后 7 d 的发育时间内，精巢体积增长缓慢。而茧蜂假寄生对小菜蛾精巢发育的抑制程度几乎与正常寄生对寄主精巢发育的影响相似，经配对样本 *t* 检验分析，各寄生日龄的精巢发育体积没有显著性差异（$P>0.05$）（图 6）。

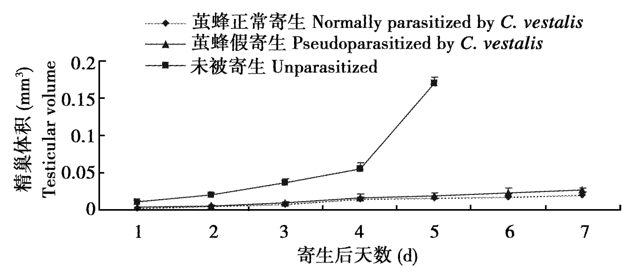


图6　茧蜂假寄生和正常寄生对小菜蛾精巢生长的影响

Fig. 6 Effects of parasitism and pseudoparasitism by *Cotesia vestalis* on *Plutella xylostella* testicular growth

同样，姬蜂假寄生或正常寄生后，寄主精巢体积增长缓慢（图7）。与假寄生相比，姬蜂正常寄生小菜蛾 5 d 后，发育的蜂幼虫已经开始取食寄主的精巢，因此，只观察了寄生后 5 d 的精巢体积变化。从寄生后第 2 天起，各寄生日龄小菜蛾精巢体积与假寄生后的精巢发育体积没有显著性差异（$P>0.05$），但与茧蜂寄生造成小菜蛾去势程度相比，姬蜂的影响显著要小，寄生后第 5 天，姬蜂寄生后的精巢体积显著小于茧蜂寄生后的精巢体积（$P<0.05$）。

与正常发育的小菜蛾精巢体积比较，无论茧蜂或姬蜂假寄生对小菜蛾精巢生长的抑制程度几乎完全模拟了各自正常寄生对小菜蛾精巢生长的影响。由此推断，2 种寄生蜂产卵寄生时，随同蜂卵注入寄主小菜蛾体内的 PDV 和毒液在引起小菜蛾寄生性去势中发挥了关键作用。

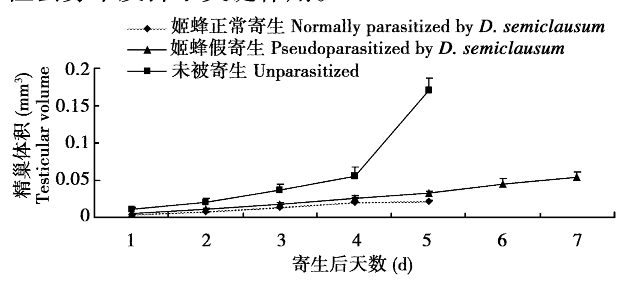


图7　姬蜂假寄生和正常寄生对小菜蛾精巢生长的影响

Fig. 7 Effects of parasitism and pseudoparasitism by *Diadegma semiclausum* on *Plutella xylostella* testicular growth

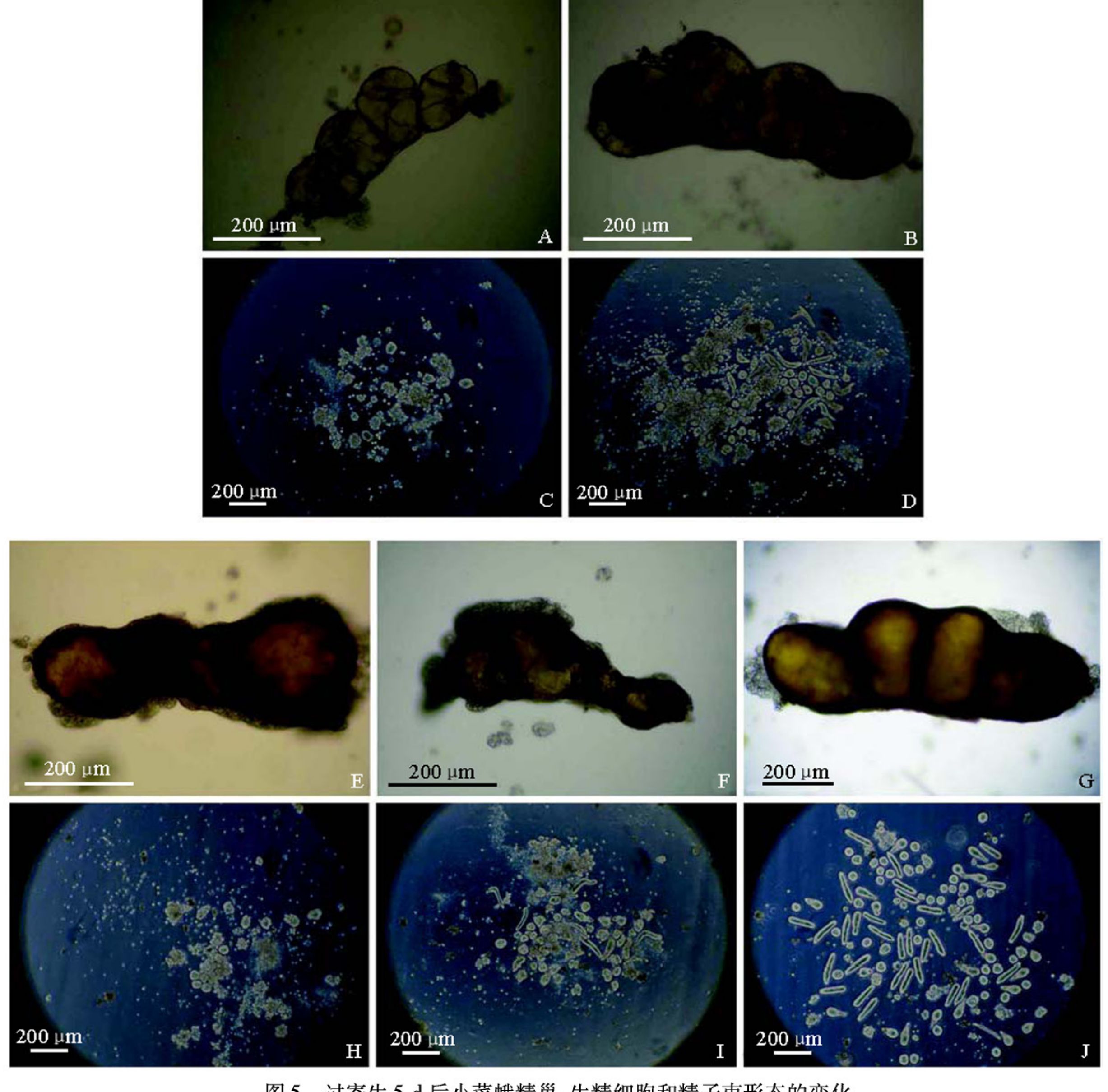


图 5　过寄生 5 d 后小菜蛾精巢、生精细胞和精子束形态的变化

Fig. 5 Changes in the morphology of testis, spermatogenic cells and sperm bundles in *Plutella xylostella* 5 d post superparasitism

A：茧蜂过寄生后的小菜蛾精巢 Testis obtained from superparasitized *P. xylostella* by *Cotesia vestalis*；B：茧蜂寄生 1 次的小菜蛾精巢 Testis obtained from singly parasitized *P. xylostella* by *C. vestalis*；C：茧蜂过寄生后的小菜蛾生精细胞形态 Spermatogenic cells from superparasitized *P. xylostella* by *C. vestalis*；D：茧蜂寄生 1 次的小菜蛾生精细胞和精子束形态 Spermatogenic cells and sperm bundles from singly parasitized *P. xylostella* by *C. vestalis*；E：姬蜂过寄生后的小菜蛾精巢 Testis obtained from superparasitized *P. xylostella* by *Diadegma semicausum*；F：姬蜂寄生 1 次的小菜蛾精巢 Testis obtained from singly parasitized *P. xylostella* by *D. semiclausum*；G：未被寄生小菜蛾精巢 Testis obtained from unparasitized *P. xylostella*；H：姬蜂过寄生后的小菜蛾生精细胞形态 Spermatogenic cells and sperm bundles from superparasitized *P. xylostella* by *D. semiclausum*；I：姬蜂寄生 1 次的小菜蛾生精细胞和精子束形态 Spermatogenic cells and sperm bundles from singly parasitized *P. xylostella* by *D. semiclausum*；J：未被寄生小菜蛾生精细胞和精子束形态 Spermatogenic cells and sperm bundles from unparasitized *P. xylostella*.

3 讨论

3.1 寄生对小菜蛾生精细胞和精子束形成的影响

菜蛾盘绒茧蜂寄生后，造成小菜蛾精子束出芽，分叉等畸形现象。Yagi 和 Tanaka（1992）的研究也表明粘虫盘绒茧蜂 *Cotesia kariyai* 寄生后，能造成寄主东方粘虫 *Pseudaletia separata* 幼虫生精细胞畸形（Yagi and Tanaka，1992）。而半闭弯尾姬蜂寄生后并未造成精子束畸形，只造成精巢外部形态

的畸形，且精子束数量多于茧蜂寄生后的数量，说明茧蜂寄生造成的寄主寄生性去势程度强于姬蜂，这种差异可能与菜蛾盘绒茧蜂产生的畸形细胞有关。Hoy 和 Dahlman(2002)报道寄生蜂畸形细胞能抑制寄主精巢蛋白的合成。因此，菜蛾盘绒茧蜂和半闭弯尾姬蜂拥有的不同寄生因子有可能是造成对同一寄主精巢生长、生精细胞和精子束形态及数量差异的内在原因，但这种差异也可能是茧蜂 PDV 和姬蜂 PDV 基因不同功能作用的结果。

茧蜂寄生造成小菜蛾精子束畸形的现象，是细胞凋亡的特征之一。汤清波等(2005)研究发现棉铃虫和烟青虫正交一代可产生部分生殖器官畸形的不育个体，而我们研究姬蜂寄生后造成小菜蛾精巢畸形，也可能引起小菜蛾不育。Digilio 等(2000)研究指出无网长管蚜茧蜂 *Aphidius ervi* 的毒液蛋白会引起寄主蚜虫卵母细胞的程序化死亡。Polanska 等(2005) 发现滞育大蜡螟 *Galleria mellonella* 的精母细胞发生凋亡。此外，蔡东章等(2006)研究报道，茧蜂和姬蜂寄生都引起寄主精母细胞的退化。因此，茧蜂和姬蜂寄生后小菜蛾生精细胞和精子束数量的减少，可能是小菜蛾生精细胞凋亡的结果。

3.2　过寄生对小菜蛾寄生性去势程度的影响

过寄生时，寄生蜂在产多个蜂卵于寄主体内的同时也将多倍生理剂量的寄生因子一同注入，但最终只有 1 头蜂发育成功(白素芬等，2005)。茧蜂或姬蜂寄生 3 次后，小菜蛾精巢体积均比 2 种蜂分别只寄生 1 次的小菜蛾精巢体积小。茧蜂过寄生后，小菜蛾精巢鞘更透明；姬蜂过寄生后，小菜蛾精巢畸形程度更严重。2 种蜂过寄生后，小菜蛾生精细胞均极少发育成精子束，基本停留在精母细胞发育时期，这说明数倍生理剂量的寄生蜂母代物质能造成被寄生寄主更加明显的寄生性去势，由此说明寄生因子是引起寄主昆虫寄生性去势的关键原因，且有剂量效应。

此外，寄生因子破坏寄主精巢鞘的结构也是造成寄主昆虫精子发生和形成受阻的重要原因(Reed and Backage，1997)。受菜粉蝶绒茧蜂 *Apanteles glomeratus* 寄生后的大菜粉蝶 *Pieris brassicae* 精巢鞘的厚度只有正常发育的 1/4(Junnikkala，1985)。鳞翅目昆虫精巢鞘能分泌少量的蜕皮甾类，促使精母细胞发育(Loeb *et al*.，1982，1984)。而本文研究的这 2 种蜂寄生都使小菜蛾的精巢鞘变薄(蔡东章等，2006)，由此可以解释 2 种蜂过寄生后，均极少产生精子束的原因。昆虫精子发生受内激素的控制。一方面，血淋巴中 20-羟基蜕皮酮滴度高峰刺激精母细胞进入减数分裂中期(Friedlander and Reynolds，1988)；另一方面，高滴度的保幼激素抑制精子发生(Kajiura *et al*.，1993)。Perveen (2000) 报道了保幼激素类似物能抑制斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 幼虫的精子发生。就菜蛾盘绒茧蜂和半闭弯尾姬蜂而言，被茧蜂寄生的小菜蛾幼虫不能进入预蛹期，更不能化蛹，表明寄主体内激素平衡受到严重影响，从而导致精母细胞和精细胞的畸形；姬蜂寄生后的小菜蛾幼虫能进入预蛹期，但不能化蛹，证明寄主内激素平衡变化弱于茧蜂寄生的寄主。因此，不同种类的寄生蜂对寄主内激素的调控程度不同，必然对寄主精子发生和形成产生不同程度的影响。而寄生对寄主内激素调控的程度显然与寄生蜂产在寄主体内的寄生因子有关。

3.3 寄生因子对小菜蛾精巢生长发育的影响

2 种寄生蜂寄生后，小菜蛾精巢增长缓慢，体积明显小于正常发育的小菜蛾精巢体积，表明 2 种寄生蜂寄生能够抑制小菜蛾精巢生长。通过假寄生，在排除寄生蜂幼虫的取食及幼虫分泌物和畸形细胞等因子的干扰下，证实了 2 种寄生蜂携带的母代物质如 PDV 和毒液完全模拟了正常寄生对小菜蛾精巢生长发育的作用，说明 PDV 和毒液在引起寄主寄生性去势中发挥主要作用。这与 Tagashira 和 Tanaka (1998)报道的 PDV 是造成寄主寄生性去势的主要因子的结果相一致。菜蛾盘绒茧蜂寄生小菜蛾后，精巢鞘几乎不积累黄色物质，呈浅黄色半透明；而半闭弯尾姬蜂寄生后能造成小菜蛾精巢发育畸形，精巢鞘积累有少量黄色物质，则说明茧蜂 PDV 和姬蜂 PDV 的作用机制存在差异，并最终导致对寄主小菜蛾精巢生长发育影响的差异。

综上所述，2 种携带不同类型 PDV 的寄生蜂均造成寄主小菜蛾明显的寄生性去势，但茧蜂寄生引起小菜蛾精子束的畸形，而姬蜂寄生却引起小菜蛾精巢形态的畸形，两种不同的表现形式，可能是 2 类 PDV 基因在小菜蛾精巢中表达产物不同引起的，也可能是 2 类 PDV 对小菜蛾生殖调控的不同机制所为，这些还有待进一步研究。

参 考 文 献 (References)

Bai SF, Cai DZ, Li X, Chen XX, 2009. Parasitic castration of *Plutella xylostella* larvae induced by polydnaviruses and venom of *Cotesia vestalis* and *Diadegma semiclausum*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 70: 30 – 43.

Bai SF, Chen XX, Cheng JA, Fu WJ, He JH, 2003. Characterization of

Cotesia plutellae polydnavirus and its physiological effects on the diamondback moth, *Plutella xylostella* larvae. *Acta Entomologica Sinica*, 46(4): 401 -408. [白素芬, 陈学新, 程家安, 符文俊, 何俊华, 2003. 菜蛾盘绒茧蜂多分 DNA 病毒的特性及其对小菜蛾幼虫的生理效应. 昆虫学报, 46(4): 401 -408]

Bai SF, Chen XX, Cheng JA, Fu WJ, He JH, 2005. Effects of host age at the time of oviposition, superparasitism and host starvation after parasitism on the growth of *Cotesia plutellae* larvae and their teratocytes. *Acta Entomologica Sinica*, 48 (3): 331 -336. [白素芬, 陈学新, 程家安, 符文俊, 何俊华, 2005. 寄主龄期、过寄生和寄主饥饿处理对菜蛾盘绒茧蜂幼蜂及畸形细胞发育的影响. 昆虫学报, 48(3): 331 -336]

Bai SF, Chen XX, Cheng JA, Fu WJ, He JH, 2002. Development and ultrastructure of *Cotesia plutellae* (Kurdjumov) teratocytes. *Journal of Zhejiang University* (*Agric. & Life Sci.*), 28 (6) : 635 -640. [白素芬, 陈学新, 程家安, 符文俊, 何俊华, 2002. 菜蛾盘绒茧蜂畸形细胞发育及其超微形态结构. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 28(6): 635 -640]

Bai SF, Li X, Sun SJ, 2004. Polydnavirus genome organization and gene expression in parasitoid. *Journal of Henan Agricultural University*, 38(3): 313 -318. [白素芬, 李欣, 孙淑君, 2004. 寄生蜂多分 DNA 病毒基因组结构及基因表达. 河南农业大学学报, 38(3): 313 -318]

Beckage NE, Gelman DB, 2004. Wasp parasitoid disruption of host development: Implications for new biologically based strategies for insect control. *Annual Review of Entomology*, 49: 299 -330.

Brown JJ, Kainoh Y, 1992. Host castration by *Ascogaster* spp. (Hymenoptera: Braconidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 85: 67 -71.

Cai DZ, Bai SF, Li X, Chen XX, 2006. Effects of parasitization by three endoparasitoids on spermatogenesis in their hosts, *Plutella xylostella* larvae. *Acta Entomologica Sinica*, 49 (6): 908 - 917. [蔡东章, 白素芬, 李欣, 陈学新, 2006. 三种内寄生蜂寄生对小菜蛾幼虫精子发生的影响. 昆虫学报, 49(6): 908 -917]

Digilio MC, Isidoro N, Tremblay E, Pennacchio F, 2000. Host castration by *Aphidius ervi* venom proteins. *Journal of Insect Physiology*, 46: 1 041 -1 050.

Friedlander M, Reynolds SE, 1988. Meiotic metaphases are induced by 20-hydroxyecdysone during spermatogenesis of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. *Journal of Insect Physiology*, 34(11): 1 013 -1 019.

Hoy HL, Dahlman DL, 2002. Extended *in vitro* culture of *Microplitis croceipes* teratocytes and secretion of TSP14 protein. *Journal of Insect Physiology*, 48(4): 401 -409.

Jones D, 1996. Biochemical interaction between chelonine wasps and their lepidopteran hosts: after a decade of research - the parasite is in control. *Insect Biochemistry Molecular Biology*, 26 (10): 981 -996.

Junnikkala E, 1985. Testis development in *Pieris brassicae* parasitized by *Apanteles glomeratus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 37: 283 -288.

Kajiura Z, Nakagaki M, Takei R, 1993. Spermiogenesis of the testes of juvenile hormone-treated silkworm larvae, *Bombyx mori*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 106*A*: 495 -499.

Kroemer JA, Webb BA, 2004. Polydnavirus genes and genomes: Emerging gene families and new insights into polydnavirus replication. *Annual Review of Entomology*, 49: 431 -456.

Loeb MJ, Woods CW, Brandt EP, Borkovec AB, 1982. Larval testes of the tobacco budworm: a new source of insect ecdysteroids. *Science*, 218: 896 -898.

Loeb MJ, Brandt EP, Birnbaum MJ, 1984. Ecdysteroid production by testes of the tobacco budworm, *Heliothis virescens*, from last larval instar to adult. *Journal of Insect Physiology*, 30(5): 375 -381.

Lu ZJ, Wang YC, You ZP, 1993. Ultrastructure of eupyrene-apyrene sperm *Agrotis ypsilon*. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 16 (3): 38 - 43. [卢中建, 王荫长, 尤子平, 1993. 小地老虎真核和无核精子的超微结构. 南京农业大学学报, 16(3): 38 - 43]

Nalini M, Kim Y, 2009. Transient expression of a polydnaviral gene, *CpBV15β*, induces immune and developmental alterations of the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 100(1): 22 -28.

Perveen F, 2000. Effects of sublethal dose of chlorfluazuron on testicular development and spermatogenesis in the common cutworm, *Spodoptera litura*. *Physiological Entomology*, 25(4): 315 -323.

Polanska MA, Ciuk MA, Cymborowski B, Bebas P, 2005. Germ cell death in the testis and its relation to spermatogenesis in the wax moth, *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae), effects of facultative diapause. *Journal of Experimental Zoology*, 303A: 1 013 -1 029.

Reed DA, Beckage NE, 1997. Inhibition of testicular growth and development in *Manduca sexta* larvae parasitized by the braconid wasp *Cotesia congregata*. *Journal of Insect Physiology*, 43 (1): 29 -38.

Tagashira E, Tanaka T, 1998. Parasitic castration of *Pseudaletia separata* by *Cotesia kariyai* and its association with polydnavirus gene expression. *Journal of Insect Physiology*, 44(9): 733 -744.

Tang QB, Yan YH, Zhao XC, Wang CZ, 2005. Testes and chromosomes in interspecific hybrids between *Helicoverpa armigera* (Hübner) and *Helicoverpa assulta* (Guenée). *Chinese Science Bulletin*, 50(11): 1 103 -1 108. [汤清波, 阎云花, 赵新成, 王琛柱, 2005. 棉铃虫和烟青虫杂交子一代幼虫的精巢和染色体观察. 科学通报, 50(11): 1 103 -1 108]

Yagi S, Tanaka T, 1992. Retardation of testis development in the armyworm, *Pseudaletia separata*, parasitized by the braconid wasp, *Cotesia kariyai*. *Invertebrate Reproduction and Development*, 22: 151 -157.

(责任编辑:袁德成)